Zur Wirkungsweise des Schweine-Rotlauf-Immunserums.

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der gesamten Medizin

verfaßt und einer hohen medizinischen Fakultät der

Kgl. Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Schohei Fukui

appr. Arzt aus Japan.

München 1914

RUDOLPH MÜLLER & STEINICKE.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität München.

Referent: Geheimrat Prof. Dr. Max Gruber.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

I. Uebersicht und Kritik der Literatur über die Wirkungsweise des Schweinerotlauf-Immunserums . . 5—13

II. Kritische Literaturübersicht über den Unterschied der Wirkung des baktericiden Immunserums außerhalb und innerhalb des Tierkörpers . . . . . 14—17

III. Eigene Untersuchung:

A. Die Untersuchungsmethode . . . . . 17—19

B. Das Material der Untersuchung 20

C. Die Resultate der Untersuchung:

1. Die Versuche über die Wachstumsverhältnisse der Rotlaufbacillen unter anaeroben und aeroben Verhältnissen . . . . . 20—22

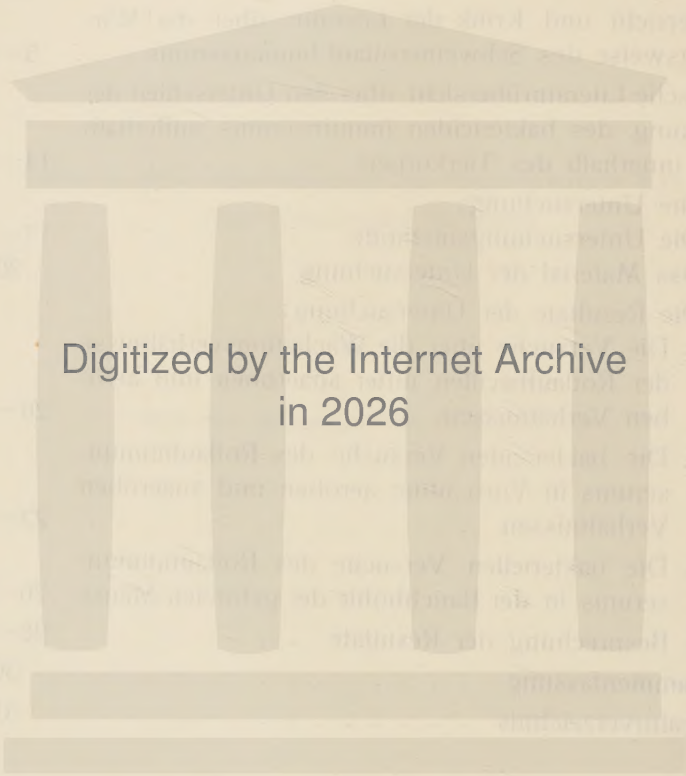
2. Die bactericiden Versuche des Rotlaufimmunserums in Vitro unter aeroben und anaeroben Verhältnissen . . . . . 22—26

3. Die bakteriellen Versuche des Rotlaufimmunserums in der Bauchhöhle der getöteten Mäuse 26—27

4. Besprechung der Resultate . . . . . 28—29

IV. Zusammenfassung 30

V. Literaturverzeichnis 31



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548312_0143

Durch eifrige Forschungen in den letzten Jahren hat unsere Erkenntnis der Wirkungsweise der antiinfektiösen Immunsera eine großeErweiterung erfahren. Trotzdem gibt es einige Immunsera, deren Wirkungsweise uns noch ziemlich dunkel ist. Zu dieser Gruppe gehört das Schweinerotlaufimmunserum.

Es war das erste Serum gegen eine septikämische Infektionskrankheit, welches für Schutz- und Heilzwecke benutzt wurde und es sind darüber schon ziemlich viele Forschungen gemacht worden; doch sind die Meinungen über die Wirkungsweise desselben so verschieden, daß man darüber in Staunen versetzt wird. Der eine sagt, die Wirkung des Rotlaufimmuserums sei eine bakterizide, der andere meint eine bakteriotropine, der dritte behauptet, die Wirkung sei eine antiaggressive.

I. Übersicht und Kritik der Literatur über die Wirkungsweise des Schweinerotlauf-Immunserums.

Prof. Emmerich, der die spezifische Schutzwirkung des Blutes mit Rotlaufbazillen immunisierter Tiere entdeckt hat, untersuchte mit di Mattei (1) (1887 und 1888) und Mastbaum (2) (1890) sehr genau die Baktericidie und den Mechanismus der Schutz- und Heilwirkung des Rotlaufimmunserums, wobei er den Schluß zog, daß der letztere im Wesentlichen auf der Baktericidie der Körpersäfte beruhe, während Metschnikoff (3) die Steigerung der Phagozytose als Ursache der Heil- und Schutzwirkung betrachtete. Diese Ansicht Emmerich's stützt sich auf die schon im Jahre 1888 über die Ursache der erworbenen Immunität (Fortschritte der Medizin 1888 p. 729 etc.) also allen voraus konstatierte Tatsache daß der hoch immunisierte Tierkörper die in denselben eingeführten Rotlaufbazillen je nach dem Grade der erzielten Immunität innerhalb 25 Minuten bis 10 Stunden vernichtet und daß man nach dieser Zeit die abgetöteten, in den verschiedenen Stadien der Bakteriolyse befindlichen Rotlaufbazillen haufenweise frei im subcutanen Gewebe liegend findet, ohne daß Phagozyten- oder überhaupt Zelleinschlüsse zu bemerken sind. Emmerich glaubte damit und durch andere Versuche bewiesen zu haben, daß die Vernichtung der Rotlaufbazillen durch eine in den Körpersäften kreisende antibakterielle Substanz zu Stande komme.

Metschnikoff und Prettner führten dem gegenüber die Beobachtung ins Feld, daß die Rotlaufbazillen im immunisierten Tierkörper unter Umständen lange Zeit wie harmlose Saprophyten fortleben können. Sieht man aber die Versuche dieser Forscher genau nach, so findet man, daß bei Injektion von viel Immunserum auch große Mengen von Rotlaufbazillen nach wenig Stunden zu Grunde gehen und nur wenn sehr wenig, oder wie bei Metschnikoff geringwertiges Serum injiciert wird, dann werden die Rotlaufbazillen natürlich nur zum Teil vernichtet und es entsteht eine mildverlaufende chronische Erkrankung, bei der man noch nach langer Zeit vereinzelte Bazillen in den Organen findet, weil eben der bakteriolytische Immunkörper in zu geringer Menge vorhanden ist, so daß zwar viele Bazillen vernichtet werden, aber nicht alle.

Friedberger (4) sucht diese Erscheinung durch rein mechanische Momente zu erklären, was aber überflüssig erscheint, da unsere Erklärung jedenfalls die nächstliegende ist. Die Sache verhält sich im Tierkörper ähnlich wie bei der Bakteriolyse in Vitro. Je nach dem Grad der Wirksamkeit des Immunserums oder dessen relativer Menge im Verhältnis zu den Bakterien kann es in vitro wie im Tierkörper zur vollständigen oder teilweisen Vernichtung derselben kommen, so daß unter Umständen die Zahl der Keime tagelang die gleiche bleibt. Schließlich aber, wenn immer mehr Immunkörper durch die Bakterien in vitro absorbiert oder aus dem Tierkörper ausgeschieden werden, vermehren sich die noch vorhandenen spärlichen Bakterien und es kommt zum Tod des Tieres durch dieselben Bakterien, die, wie Metschnikoff und Prettner fälschlich meinen, wie harmlose Saprophyten im immunisierten Tierkörper eine Zeit lang sich verhielten. Dies zeigt, daß es sich hiebei nicht, wie Metschnikoff und Prettner zu glauben scheinen, um ein Avirulentwerden der Rotlaufbazillen handelt; denn sonst müßten die im Organismus avirulent gewordenen Bazillen, wenn nach chronisch verlaufener Infektion schließlich doch der Tod eintritt, im Tierkörper auch wieder virulent geworden sein.

Daß es sich hiebei nur um ungenügende Baktericidie infolge schwacher Immunität handelt, geht auch aus den Untersuchungen Hans von Ganslmayer's (5) hervor, welche die früheren gleichen Befunde Emmerich's bestätigten. Dieser Forscher stellte durch viele kulturelle Versuche fest, daß bei der Immunisierung mit

Rotlaufserum und Rotlaufbazillen letztere schon nach einem Tag nicht mehr im Blut und in den Organen der geimpften Schweine nachweisbar sind.

Aus Prettner's (6) schöner Arbeit geht übrigens klar und schlagend hervor, daß selbst bei intraperitonealer Injektion von wenig Immunserum (0,1 ccm) und viel Kultur (0,5 ccm) bei Mäusen schon nach 8 Stunden alle Bazillen verschwunden sind, ohne daß irgend etwas von Phagocytose zu bemerken ist. Prettner's Versuche bestätigen in jeder Beziehung die Anschauungen Emmerich's. Wenn Prettner keine in Auflösung begriffenen Rotlaufbazillen im Tierkörper gesehen hat, so kann dies nur darauf beruhen, daß er zu spät danach gesucht hat, d. h. zu einer Zeit, in der die Bazillen bereits völlig aufgelöst waren.

Voges (7) untersuchte die baktericide Wirkung des Rotlaufimmunserums in vitro. Während sich in den mit physiologischer Kochsalzlösung oder mit Bouillon verdünnten Proben des Immunserums die eingesäten Rotlaufbazillen vermehrten, wurden im unverdünnten Serum gewisse Mengen abgetötet. Voges glaubt aber daß diese baktericide Wirkung so gering sei, daß sie nicht durch die Baktericidie des Immunserums, sondern nur als Alexinwirkung gedeutet werden könne. Er meint, die spezifisch wirksamen Rotlauf-Antikörper seien nur im Tierkörper wirksam, indem eine inaktive Formation der Antistoffe im Tierkörper in eine aktive Modivikation umgebildet werde. Wir werden sehen, daß diese zuerst von R. Pfeiffer aufgestellte Theorie nicht haltbar ist und durch unsere Versuchsergebnisse entschieden wiederlegt wird.

Auch Voges und Schütz (8) kamen auf Grund der Beobachtung, daß das Rotlaufimmunserum in vitro weniger baktericid wirkt als im Tierkörper, zu der hypothetischen Anschauung, daß die baktericiden Antikörper zum geringeren Teil in aktiver, zum überwiegenden Teil in inaktiver Form vorhanden seien und daß die letzteren bis jetzt nur im Tierkörper in die aktive Modifikation übergeführt werden können. Die Rotlaufbazillen sollen eine wachsartige Hülle besitzen, welche im immunisierten Organismus durch Organtätigkeit so verändert oder „aufgeschlossen" wird, daß nun die Zerstörung des Bacterienprotoplasmas durch die baktericid wirkenden, im Blutserum löslichen Schutzstoffe stattfinden kann.

Nachdem sowohl Emmerich und die Mattei, Emmerich und

Mastbaum, ferner Prettner und Voges, sowie Voges und Schütz eine, wenn auch geringe Baktericide des Rotlaufimmunserums in vitro nachweisen konnten, so muß es sehr auffallend erscheinen, daß Mesnil (9) unter Metschnikoffs Leitung kein baktericides Vermögen des Immunserums in vitro beobachten konnte. Der Grund hievon ist die unvollkommene Methode, welche Mesnil zum Nachweis der Baktericidie benützt hat; er führte keine baktericiden Zählversuche vermittels der Gelatineplattenmethode aus, die allein hier zu entscheiden vermag, sondern er begnügte sich mit der Einsaat einer zahlenmäßig nicht ermittelten Menge von Rotlaufbazillen in das Immunserum, worauf er beobachtete, ob eine Vermehrung der Bazillen, oder ob Degenerationserscheinungen an denselben eintraten. Auch die hartnäckige Voreingenommenheit der beiden Forscher für die Phagocytenlehre mag die Untersuchung zu dem unrichtigen Resultat geführt haben. Kein Wunder, daß er zu dem schon von Emmerich und namentlich auch von Prettner als unzutreffend erwiesenen Schlusse kommt, das Rotlaufserum erhöhe die Aktivität der Phagocyten, insbesondere des polynucleären, sodaß dieselben nun viel rascher verdauen. Das Serum sei daher nur ein Stimulanz für die Zellen, denen die Verteidigung des Organismus obliegt.

Auch Jarotzky (10) beantwortete die Frage, ob durch Mesnil's Untersuchungen entschieden worden sei, was aus den Rotlaufbazillen an der Injektionsstelle wird, mit einem entschiedenen Nein. Mesnil konnte ebenso wenig wie Emmerich und Mastbaum beim Einführen der Bazillenkultur in das lockere subcutane Bindegewebe des Rückens Phagocytose beobachten. Nur wenn er einen fremden Reiz durch Wattestücke einführte, oder wenn er in das straffere Gewebe der Bauchhaut die Bazillen injicierte, trat Phagocytose ein. Aus den Versuchen von Jarotzky geht hervor, daß er sehr schwach wirkendes Immunserum (dasselbe war aus dem Pasteur'schen Institut und ein Jahr alt!) benutzt hat. Erst 10 Stunden nach der Injektion des Serums und der Rotlaufbazillen tritt nach Jarotzky stärkere Phagocytose ein; vorher, d. h. noch nach 4 und 6 Stunden, waren aber in den Versuchen von Emmerich die Rotlaufbazillen, wie kulturell erwiesen wurde, längst abgetötet. Die Phagocyten nehmen somit offenbar nur die abgetöteten, nicht die lebenden Bazillen auf. Jedenfalls beobachtete man bei hoch immunsierten Tieren oder bei der In-

jektion von hochwertigem Serum zu einer Zeit, in welcher bereits alle Bazillen abgetötet sind, nach Emmerich keine Phagocytose. Wenn Jarotzky meint, Emmerich habe deshalb keine Phagocytose bemerkt, weil er keine Gewebschnitte machte, sondern sich mit der Anfertigung von mikroskopischen Präparaten aus Flüssigkeitstropfen begnügte, so ist diese Unterstellung gänzlich aus der Luft gegriffen; denn Emmerich hat das subcutane Gewebe der Injektionsstelle und aus deren weiten Umgebung herausgeschnitten und dieses sofort frisch untersucht, gleichzeitig aber auch davon Aussaaten in Gelatine, Bouillon etc. gemacht und das Fehlen der Phagocytose auch in jenen Versuchen konstatiert, bei welchen die kaum 1 Stunde vorher injicierten Rotlaufbacillen nach dem Kulturergebnis bereits abgetötet waren.

Einen besonderen Standpunkt nimmt in der vorliegenden Frage Marx (11) ein. Der Ehrlich'schen Hypothese entsprechend enthalten die baktericiden Sera zwei wesentliche Substanzen: den stabilen Immunkörper und das labile Complement. Schon die frischen Sera enthalten häufig eine weit geringere Menge Complement als zur Aktivierung des Immunkörpers auch nur entfernt ausreichend ist. Mit dem Altwerden des Serums verschwindet auch noch diese geringe Menge Complement. Wird nun ein solches, vorwiegend aus Immunkörpern bestehendes Serum in einen Tierkörper injiziert, so hängt der Erfolg davon ab, ob der Immunkörper in diesem fremden Organismus genügend Complement findet. Wenn also die baktericide Wirkung des Rotlaufserums im Tierkörper größer ist als in Vitro, so beruht dies darauf, daß im Tierkörper Complement vorhanden ist, welches den Immunkörper in eine aktivere, baktericidere Form überführt. Ich werde in einer besonderen Arbeit (über das Wesen des Complements) zeigen, daß diese Ansicht zum Teil zutreffend ist, daß aber die stärkere Wirkung des Immunserums im Tierkörper im wesentlichen auf der Sauerstoffabwesenheit beruht.

Deutsch (12) hat durch die Methode der spezifischen Absorption in Vitro und durch die Degeneration der Rotlaufbazillen in alexinhaltigem, frischem Immunserum, in welchem sie schon nach 12 Stunden bei der Gramm'schen Färbung entfärbt, resp. mit der Kontrastfarbe tingiert erscheinen, das Vorhandensein eines baktericiden Schutzkörpers nachgewiesen. Deutsch behauptet aber, daß die bakteriolytischen Sera, um ihre volle Wirk-

samkeit zu offenbaren, der Zelltätigkeit nicht entbehren können, da Cantacuzene (13) zeigte, daß opiumvergiftete Meerschweinchen, bei denen es zu einer Läsion der Protoplasmabeweglichkeit und der Phagocytose kommt, trotz überschüssigen Choleraserums der Vibrioneninfektion unterliegen und da Deutsch selbst Ähnliches für die Typhusbazillen nachweisen konnte. In dieser Beziehung kann ich höchstens das Zugeständnis machen, daß in dem gegen Rotlauf immunisierten Tier die durch die baktericide Substanz des Blutes abgetöteten Rotlaufbazillen verdaut werden, sodaß der Organismus gegen die Endotoxine geschützt wird, die bei der Auflösung der frei im Gewebe liegenden Bazillen zur Wirkung auf die Körperzellen gelangen würden. Letzteres ist übrigens trotz der Phagocytose bei einer großen Anzahl der injicierten Rotlaufbazillen der Fall, da man deren vollständige Auflösung ohne Zelleinschluß beobachten kann.

Nach Nidrigailoff (14) wirken die Bordet'schen Fixatoren weder auf die Virulenz der Rotlaufbazillen, noch regen sie die Phagocytose an und sie schützen das Tier nicht gegen Infektion. Nidrigailoff suchte deshalb auf Metschnikoff's Veranlassung zu entscheiden, ob die sogenannte Stimuline die Hauptkraft der Sera bilde. Seine Bemühungen hatten aber ebenfalls ein negatives Resultat, sodaß sie sicherlich nicht als Stütze für die Bedeutung der Phagocytose bei der Rotlaufimmunität verwertet werden können.

Die Versuche Neufeld und Rimpau's (15), im Rotlaufimmunserum spezifische „Bakteriotropine" nachzuweisen, fielen negativ aus. Die Bakteriotropine sollen eine solche Veränderung der Bakterien bewirken, daß die Bakterien leichter von den Phagozyten aufgenommen und verdaut werden. Ich werde aber zeigen, daß es sich beim Rotlaufimmunserum lediglich um baktericide Wirkung handelt.

Staal (16) fand, wie viele andere, daß die Rotlaufbazillen weder durch Normal- noch durch Immunserum in beträchtlichen Mengen abgetötet werden konnten, wohingegen das Letztere bei kranken Tieren eine überraschende kurative Wirkung hat. Staal stellte fest, daß Immunserum die Phagocytose verstärkt, d. h. die Prozentzahl der an der Phagocytose beteiligten Zellen eine größere ist, als bei Normalschweineserum. Da jedoch letzteres auch schon sehr stark wirkt, die phagocytierten Bazillen aber intakt erscheinen

während sie im Immunserum geschädigt sind (schlechtere Färbung) so ergibt sich hieraus als höchstwahrscheinlich, daß im Immunserum die Rotlaufbazillen erst nach ihrer Abtötung und bakteriolytischen Veränderung von den Phagocyten aufgenommen werden.

Rickmann (17) erkennt zwar die von Staal erhobenen Befunde über die Erhöhung der opsoninischen Kraft des Immunserums den Bazillen gegenüber an, hebt aber hervor, daß andererseits die bakteriolytische Wirkung des Immunserums nicht außer Acht zu lassen sei.

Nach Holth (18) enthält das Rotlaufserum relativ bedeutende Mengen von Agglutininen und von Amboceptoren, die aber keine nachweisbare baktericide Wirkung zeigen. Der Widerspruch, der in diesen Feststellungen zu liegen scheint, wird durch meine nachstehend mitgeteilten Versuchsresultate über die bedeutende Steigerung der Baktericidie des Rotlaufserums unter anaeroben Verhältnissen, wie sie auch im Körper vorhanden sind, in einfacher und befriedigender Weise aufgeklärt und es ist nicht nötig hiezu eine antiagressive Wirkung anzunehmen, wie es Holth tut. Bemerkenswert ist, daß auch Holth zu dem Schlusse kommt, das Rotlaufserum sei nicht im Stande die Phagocytose direkt zu fördern.

Damit nichts fehle, was man zur Erklärung der Immunitätsphänome überhaupt herangezogen hat, füge ich noch folgendes an: Bail (19) erklärt die Wirkung des Rotlaufserums für eine antiaggressive, sie richte sich gegen jene (völlig hypothetischen) Sekretionsprodukte, welche die Bakterien im Körper zur Überwindung von dessen Schutzkräften abscheiden. Nach der Widerlegung der Bedeutung der Aggressintheorie Bail's für die Immunität durch Friedberger, die ich für zutreffend halte, können wir von einer Kritik der Bail'schen Ansichten absehen.

Klimmer (20) meint, daß durch das Rotlaufserum der Organismus gegen die schädigenden Einflüsse der Bakterien unempfindlich geworden sei, wodurch die Rotlaufbazillen gleichsam zu harmlosen Schmarotzern umgestaltet werden. Die Verhältnisse liegen nach Klimmer so, wie bei einem antitoxischen Serum, wobei jedoch zu bedenken ist, daß eine Toxinbildung beim Rotlaufbazillus nicht nachgewiesen ist. Es kann aber gar keine Rede davon sein, daß sich die Rotlaufbazillen im immunisierten Tier wie harmlose Schmarotzer verhalten, sie behalten vielmehr alle ihre Eigenschaften und namentlich auch die Virulenz; da sie aber

durch die baktericiden Schutzstoffe dezimiert werden, so treten im immunisierten Organismus selbstverständlich nicht jene stürmischen Erscheinungen ein, welche man im disponierten Körper beobachtet, in welchem die Zahl der Bazillen nicht nur nicht successiv vermindert wird wie im immunisierten, sondern vielmehr eine rapide Erhöhung erfährt, die rasch zum Tode führt. Auch Weil und H. Braun (21) rechnen das Rotlaufserum zu den antiaggressiven Seris und meinen, daß, während die antitoxischen Immunsera der Mitwirkung des Organismus durch das Complement nicht bedürfen, dies bei den antiagressiven der Fall sei, — aber tatsächlich bedarf das Rotlaufserum, wie ich nachstehend zeigen werde der Mitwirkung des Organismus nicht um seine Baktericidie zu entfalten, sondern nur der anaeroben Bedingungen.

Noch eine besondere Ansicht über die Ursache der Rotlaufimmunität entwickelt J. Schnürer (22). Von der Tatsache ausgehend, daß man bei mit Serum behandelten Tieren oft noch nach 24 Stunden Rotlaufbazillen in parenchymatösen Organen findet und daß es unter den gesunden Schweinen eine Reihe von Rotlaufbazillenträgern gibt, welche diese Eigenschaft einer überstandenen Infektion verdanken, zieht Schnürer den Schluß, daß die Immunität bei Rotlauf und somit auch die Wirkung der Serovaccination nicht auf einer Vernichtung der Erreger beruhen kann, sodern auf einem Unempfindlichwerden des Organismus gegen die schädigenden Einflüsse der Bakterien (Bakterienimmunität durch strukturelle Anpassung nach Sauerbeck). Schnürer bedenkt nicht, daß das Vorhandensein von lebenden Rotlaufbazillen in den Organen 24 Stunden nach der Serumimpfung einzig und allein darauf beruht, daß entweder die injicierte Serummenge oder die Schutzkraft des Serums zu gering waren. Die Tatsache der Unwirksamkeit der Bazillen kann in zwei Ursachen begründet sein, entweder dem Nichtvorhandensein einer individuellen Disposition beim Träger oder in der Avirulenz der Bazillen. Letztere scheint in den meisten Fällen, wenn nicht ausschließlich, in Betracht zu kommen.

Wilhelm Späth (23) hat in zwei größeren Abhandlungen zu beweisen versucht, daß dem Rotlaufserum keine baktericide Wirkung zukommt, aber er hat offenbar zu schwach wirksames Rotlaufserum von ungenügend immunisierten Tieren benutzt, sodaß er die geringe Baktericidie, welche selbst Serum von hochimmuni-

sierten Tieren auch im aeroben Versuch in vitro zeigt, übersehen hat. Den Ausschlag gebenden anaeroben Versuch hat er beim Immunserum nicht ausgeführt.

Zutreffend scheinen uns die Beweise zu sein, welche Späth gegen die Bedeutung der Bakteriotropine bei der Rotlaufimmunität anführt und er kritisiert mit Recht die Befunde von Neufeld und Kandiba (24), nach welchen die Phagocytose eine große Rolle bei der Rotlaufimmunität spielen soll; denn wenn Verdünnungen des Immunserums unter 0,001 ccm, welche im Tierkörper nicht mehr wirksam sind, noch Phagocytose hervorrufen, so spricht dies allerdings gegen die Bedeutung der Phagocytose für die Schutzwirkung des Serums und der Einwand von Gräf (25) (der unter Neufeld's Leitung arbeitete), daß beim Versuch in vivo das Serum viel stärker verdünnt werde als beim Versuch in Vitro, ist nicht zutreffend, da in den Versuchen von Neufeld und Kandiba selbst 0,0001 ccm Serum und sogar weniger in Vitro noch starke Phagocytose verursachte, während diese letztere Verdünnung bei der Injektion im Mäusekörper nicht einmal erreicht wird. Wenn aber Gräf (ebenso wie schon früher Neufeld und Kandiba) behauptet, daß die Gründe, welche Späth für die ursächliche Bedeutung von Antiaggressinen für die Rotlaufimmunität anführt, nichts weniger als zwingend sind, so muß ich dem zustimmen. Es ist Späth nicht gelungen Aggressin beim Schweinerotlauf nachzuweisen. Er hat überhaupt nur einen einzigen Versuch mitgeteilt, durch welchen er ein Exsudat von Aggressincharakter erzeugt zu haben glaubt; er sagt aber selbst, daß das Resultat dieses Versuches sehr dürftig ist und in der Tat ist es selbstverständlich, daß das durch intrapleurale Injektion enormer Rotlaufbazillenmassen (20 ccm Bouillonkultur) erzeugte Exsudat Endotoxine bezw. Bakterienproteine enthält, deren deletäre Wirkung längst bekannt ist, ohne daß auch nur ein Schein von Berechtigung vorliegt, dieselbe auf das Vorhandensein von Aggressinen im Sinne von Bail und Späth zurückzuführen. Die Antiaggressinlehre ist also wenigstens für den Rotlauf eine durch keinerlei Tatsachen gestützte, sehr zweifelhafte Hypothese, die durch den Nachweis von der beträchtlichen Erhöhung der Baktericidie des Rotlaufserums in vitro unter anaeroben Bedingungen gänzlich überflüssig wird.

II. Kritische Literaturübersicht über den Unterschied der Wirkung des baktericiden Immunserums außerhalb und innerhalb des Tierkörpers.

Verhältnismäßig lange schon ist es bekannt, daß, während bestimmte Immunsera im Tierkörper eine baktericide Wirkung entfalten, dieselben Immunsera im Reagensglase nur eine ganz schwache bakterientötende Kraft äußern. Zwar hat eine Reihe von Autoren eine solche spezifisch-baktericide Wirkung auch in Vitro beobachten können. So beobachteten Behring und Nissen (26), daß das Immunserum von gegen Vibrio Metschnikoff immunsierten Meerschweinchen diese Vibrionen in Vitro in großer Zahl vernichtet, während im Blutserum normaler Meerschweinchen in Vitro der Vibrio nicht abgetötet wird.

In gleicher Weise fand Sobernheim (27), daß die Choleravibrionen von normalem Meerschweinchenserum nur in geringer Zahl abgetötet werden, während Meerschweinchen-Immunserum gegen Cholera starke bakrericide Wirkung in Vitro besitzt.

Issaeff u. Ivanoff (28) konstatierten daß das Blutserum von gegen Vibrio Ivanoff immunisierten Meerschweinchen in vitro sehr stark ausgesprochene baktericide Eigenschaften besitzt, während normales Meerschweinchenserum unwirksam ist. Die bactericiden Versuche in Vitro von obengenannten Autoren sind besonders deshalb wertvoll, weil die Autoren auch die Wirkung normalen Meerschweinchenserums auf die genannten Vibrionen ziffermäßig mitteilten.

Zu einem von diesen Beobachtungen abweichenden Resultat gelangten Pfeiffer und Wassermann (29). Sie beobachteten, daß die baktericide Kraft des Cholera-Reconvalescentenserums im Reagensglase sehr gering ist, sodaß es bei Einsaat von etwas größeren Kulturmengen sofort versagt, „obgleich dasselbe beim peritonealen Injektionsversuch noch in minimalsten Mengen starke abtötende Wirkung auf Choleravibrionen ausübte."

Auch Meerschweinchen-Cholera-Immunserum tötet Choleravibrionen nach Pfeiffer (30) in Vitro nur in beschränkter Menge ab und versagt bei Einsaat größerer Kulturmengen. Typhusreconvalescentenserum, welches nach Pfeiffer und Kolb (31) in der Peritonealhöhle enorme Mengen von Typhusbazillen innerhalb 24 Stunden abtötet (4600 Typhusbazillen pro 1 Oese Serum) besitzt nach denselben Autoren, im Reagensglase mit Typhusbakterien gemischt, nur geringe baktericide Effekte.

In Übereinstimmung mit diesen Resultaten fand Wassermann (32), daß Blutserum von gegen Pyozyaneusbazillen immunsierten Ziegen in der Bauchhöhle von Meerschweinchen stark baktericied wirkte, während dasselbe Immunserum im Reagensglase durchaus nicht stärker abtötend auf die Pyozyaneusbazillen wirkte wie das Serum normaler Tiere.

Auf Grund dieser Versuchsresultate hat R. Pfeiffer (33) die Theorie aufgestellt, daß die baktericieden Stoffe im Immunserum in einer aktiven Modivikation vorhanden sind, die erst bei Bedarf durch Vermittlung des Organismus, z. B. durch Fermentwirkung, in die aktive, direkt auf die Bakterien wirkende Form übergeht.

Es sei übrigens bemerkt, daß Bordet (34) der Pfeiffer'schen Theorie eine andere Hypothese über die Ursache der Wirksamkeit der baktericiden Immunsera gegenüberstellte, indem er behauptete, daß an der baktericiden Wirkung zwei verschiedene Substanzen beteiligt seien, nämlich das im normalen Serum enthaltene Alexin, welches baktericid wirkt, und der spezifische Immunkörper, welcher, an sich nicht bakteriolytisch wirkend, die Bakterien lediglich „sensibilisiert" (Bordet), wodurch sie für die deletäre Wirkung der Alexine erst zugänglich werden. Diese Theorie wurde hauptsächlich durch Metschnikoff's (35) Befund, daß Choleraserum auch in vitro baktericid wirke, wenn man ihm Peritonealexsudat von normalen Meerschweinchen (d. i. Alexin) zusetzt, veranlaßt, besonders aber durch den Nachweis von Bordet (36) und von Gruber und Durham (37), daß ganz frisches Choleraserum allein diese Wirkung besitzt, wenn Antikörper und Alexine zusammen vorhanden sind.

Aber bei anderen Immunseris, wie z. B. beim Rotlaufimmunserum, ist der Unterschied der baktericiden Wirkung in- und außerhalb des Tierkörpers stets so auffallend, daß er nicht übersehen werden kann.

Neuderdings haben Sivori und Constantini (38) in der Meinung, daß außer dem thermostabilen Immunkörper auch das Buchner'sche Alexin vorhanden sein müsse, baktericide Versuche mit Tuberkelbazillen und antituberkulösem Immunserum in vitro ausgeführt und bakteriolytische Erscheinungen im gefärbten Präparat beobachtet. In vivo, d. h. in der Peritonealhöhle, erreichte jedoch die Bakteriolyse einen höheren Grad als in vitro.

In der Tat wurde auch von den meisten Forschern, welche

sich mit diesem Problem experimentell beschäftigt haben, erwiesen, daß das Immunserum septikämischer Infektionskrankheiten im Tierkörper stärker baktericid wirkt als in vitro, wo diese Wirkung oft kaum oder nur geringgradig nachweisbar ist.

Emmerich und Löw (39) haben diesen Unterschied in befriedigender Weise erklärt und experimentelle Beweise für die Richtigkeit ihrer Erklärung gebracht. Diese Autoren sagen: Der Grund, warum im Tiere bacteriolytische Substanz weit mehr Effekt äußert als in vitro ist offenbar in erster Linie der, daß die bisherigen baktericiden Versuche in vitro bei vollem Luftzutritt ausgeführt wurden. Der Sauerstoff im Blute ist aber, wenn auch nur locker, so doch immerhin an das Hämoglobin gebunden und den Bakterien weit weniger zugänglich als der freie molekulare Sauerstoff der Luft, mittels dessen die Bakterien den Immunkörper durch Oxydation bis zu einem gewissen Grade unschädlich machen können. Die bei der Schutzimpfung mit den Culturen eingeführte baktericide aktive Substanz mit labilen Atomgruppen, welche nach Emmerich und Löw im Tierkörper mit tierischem Eiweiß verbunden den Immunkörper liefert, kann durch Oxydation zu einer inaktiven Form verändert werden, während bei der bactericiden Wirkung der Alexine im normalen Serum es sich um andere labile Atomgruppen handelt, die nicht so leicht der Oxydation unterliegen. Deshalb wirkt auch Alexin aerob und anaerob in gleichem Grade baktericid.

Emmerich und Löw untersuchten nämlich die baktericide Kraft des frischen normalen Kaninchenserums gegenüber Bact. col. und Typhi abdomin unter aeroben und anaeroben Verhältnissen, aber es war kein wesentlicher Unterschied zu erkennen.

Viel kommt es hier auch auf die relative Konzentration der baktericiden Substanz an. Die baktericide Wirkung des Cholera- und Typhusimmunserums tritt anaerob auch in vitro stets und leicht ein. Ein anderer Umstand aber, der im Tiere günstig wirkt, ist die stetige Bewegung des Blutes; die Bazillen kommen so in immer erneuten Kontakt mit frischer baktericider Substanz und müssen so eher erliegen, als wenn sie ruhig am Boden eines Glasgefäßes liegen und einander teilweise sogar durch Agglutination gegen den Zutritt der Flüssigkeit schützen können. Im Tierkörper wird ferner die baktericide Wirkung des Immunserums noch durch den steten Ausgleich von Alkalitätsänderungen des Blutes begünstigt.

Müller (40) hat die von Emmerich und Löw gefundene Tatsache mit Pyocyaneusimmunserum gegen Bac. pyocyaneus nachgeprüft. Der Schluß lautet: Pyocyaneusimmunserum hat unter aeroben Bedingungen keine stärkere baktericide Kraft gegenüber virulenten Pyocyaneusbazillen als normales Serum, aber das Immunserum entfaltet bei Sauerstoffabschluß energische keimtötende Eigenschaften. Er sagt hiezu noch, die baktericide Kraft des normalen Meerschweinchenserums sei bei Abwesenheit von Sauerstoff gegenüber Bac. pyocyaneus keine größere als bei Sauerstoffzutritt.

Walker (41) hat dieselben Versuche mit Cholera- und Typhusimmunsera angestellt und die Ergebnisse, welche Emmerich und Löw erzielt haben ebenso wie ihre Schlußfolgerungen, in jeder Beziehung bestätigt.

Die übereinstimmenden Ergebnisse von Emmerich und Löw, Müller und Walker sind zuverläßiger und wertvoller als die Untersuchungen der meisten anderen Autoren, weil die Erstgenannten die Baktericidie stets durch Plattenzählungen quantitativ feststellten, was bei den meisten anderen nicht geschehen ist.

Ein Resultat, welches dem von Emmerich und Löw, Walker und Müller wiederspricht, hat Wright (42) angeblich erhalten. Aber Wright belegt seine Versuche nicht mit Zahlen; er gibt nur an, ob Wachstum oder Sterilität zu beobachten war. Außerdem stellte er dieses Resultat erst fest, nachdem das Serum 18—24 Stunden mit den Bakterien gemischt bei 37° C gehalten war. Er konnte also auch sehr beträchtliche Keimzerstörungen, die in der Zwischenzeit eingetreten waren, gar nicht bemerken und registrieren; und auch seine Resultate waren sehr verschieden. Derartige Versuche sind wertlos und jedenfalls nicht geeignet, die Angaben der anderen genannten Autoren auch nur im Mindesten zu erschüttern.

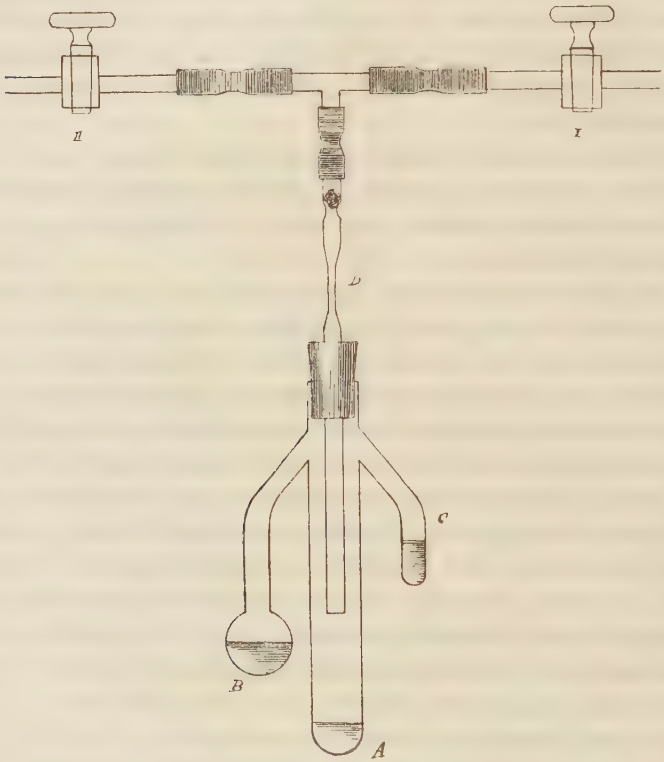
III. Eigene Untersuchung.

A. Die Untersuchungsmethode.

Zur Ausführung dieser Versuche habe ich die umseitige Einrichtung benutzt.

Bei derselben werden die Reagensgläser, welche das Serum und die Bazillen enthalten, vermittelst einer Wasserstrahlluftpumpe

evakuiert, nachdem man den Hahn I geschlossen und den Hahn II geöffnet und damit die Passage zur Wasserstrahl-Pumpe frei gemacht hat. Wenn das Manometer unter dem Druck einer Atmosphäre steht, dann schließt man den Hahn II und öffnet sehr vorsichtig und allmählich den Hahn I, sodaß der Wasserstoff



langsam Blase um Blase durch die vorgelegten Waschflaschen streicht, von denen die erste 10% Bleinitratlösung, die zweite 10% salpetersaures Silber und die dritte 1% alkalische Pyrogallollösung enthält. Sind die Reagensgläser mit Wasserstoff gefüllt, d. h. gehen keine Blasen mehr durch die Wasserflaschen, dann schließt man den Hahn I und öffnet den Hahn II und evacuiert wieder. Dieses abwechselnde Evacuieren und Wasserstoffdurchleiten muß 6 mal wiederholt werden. Wenn dies geschehen ist, werden die Hälse D der Glasröhrchen, welch letztere an ihrem oberen Ende mit Watteproplen versehen worden sind und

die den Gummipfropf des Reagensglases durchsetzen, abgeschmolzen. Diese Technik gelingt nicht immer, weil bei dieser Abschmelzung manchmal ein wenig Luft in die Reagensgläser kommt; doch konnte ich diese Unannehmlichkeit durch Benutzung eines Glasröhrchens mit langem engem Hals vermeiden. Ich habe zuerst statt der Zuschmelzung der Glasröhrchen das Gummirohr, welches über das die Reagensgläser durchsetzende Glasröhrchen gestülpt ist, mit Quetschhahn verschlossen; aber ich habe mit Sicherheit bemerkt, daß durch die neue und dicke Gummiwand die Luft sehr langsam diffundiert ist.

In die Kugel des Zweiggläschens B des Reagensglases kommt 2% alkalische Pyrogallollösung, damit etwaige, trotz Evacuation und Wasserstoffeinleitung zurückbleibende Sauerstoffreste absorbiert werden. Das Zurückbleiben kleiner Luftreste kommt manchmal vor; es ist aber unbedingt nötig, daß aller Sauerstoff restlos entfernt wird, was man durch die alkalische Pyrogallollösung erreicht.

Damit die Lösung nicht mit Sauerstoff gesättigt wird, ist es ratsam, dieselbe direkt vor der Evacuation in das Reagenglas einzufüllen. Statt dessen kann man auch die Alkalielösung zu der bereits im Glasröhrchen befindlichen wässerigen Pyrogallollösung unmittelbar vor der Evacuation zusetzen. Die alkalische Pyrogallollösung muß bei jedesmaligem Öffnen des Reagensglases erneuert oder frische Lösung hinzugesetzt werden.

Als Sauerstoffkontrolle habe ich die von Kabrehl (43) angegebene Methode benützt. Das Prinzip dieser Methode besteht darin, daß Methylenblau in Gegenwart reduzierender Substanzen in eine ungefärbte Verbindung übergeht. Man setzt einige Tropfen von alkoholischer concentrierter Methylenlösung zu gelöster Gelatine, welche vorher mit einer schwach alkalisch gemachten Traubenzuckerlösung bis ca. 0,5—0,8% versetzt war, bis sie durchscheinend blau ist. Es genügt 2 bis 3 Tropfen solcher Methylenblaulösung zu ca. 10 ccm Gelatine zu setzen. Diese Gelatine wird durch eine abgebogene Pipette in das Zweigröhrchen C gefüllt, bis dasselbe ca. bis zur Hälfte voll ist. Wenn es ganz Sauerstoff-frei ist, färbt die Gelatine manchmal schon nach 6, meistens nach 15 bis 20 Stunden ab. Die Abfärbung der mit Methylenblau gefärbten Gelatine ist nach der Menge der darin befindlichen Sauerstoffes mehr oder weniger unvollständig und bemerkt man bei weniger Sauerstoff eine dünne blaue Schicht am oberen Teile der Gelatine.

B. Das Material (Schweinerotlaufbazillus und Rotlauf-Immunserum) der Untersuchung.

Ich habe Rotlaufbazillen stets aus der Milz eines am Rotlauf verendeten Schweines isoliert und zwar immer wieder von Neuem, wenn sich die Virulenz vermindert zeigte. Ich konnte auf solche Weise immer vollvirulente Bacillen zum Versuche und zur Immunsierung benutzen. Ich habe die Immunisierung mit Kaninchen in folgender Weise durchgeführt. Ich habe 0,1 ccm 24 stündige Bouillonkultur von Rotlaufbazillen intravenös injiciert und gleichzeitig ebenfalls intravenös 10 ccm Susserin (d. i. Heilserum gegen Rotlauf, welches mir die Firma Höchst in dankenswerter Weise zur Verfügung stellte). Nachdem sich das Tier nach 10 Tagen von der leichten Erkrankung erholt hatte, injicierte ich, immer mit einem Zwischenraum von 10 Tagen intravenös 0,3 ccm, 1 ccm, dann 3 ccm, 10 ccm, zuletzt subcutan 20 cmm 24 stündige Bouillonkultur von Rotlaufbazillen. Später nach ca. 10 Tagen entnahm ich dann aus der Arterien-Femoralis oder Carotis Blut. Das Kaninchen verliert ziemlich schnell die Immunkraft. Daher habe ich, um die Immunkraft zu erhalten, mit ca. 14tägigem Zwischenraum 15 ccm 24stündige Bouillonkultur injiciert. Ich habe das Immunserum möglichst schnell nach der Gewinnung zur Untersuchung benutzt.

C. Die Resultate der Untersuchung.

1. Die Versuche über die Wachstumsverhältnisse der Rotlaufbazillen unter anaeroben und aeroben Verhältnissen.

Es ist nötig vor dem Versuch die Tatsache festzustellen, wie Rotlaufbazillen unter anaeroben Verhältnissen gedeihen, weil meine Versuche hauptsächlich unter anaeroben Verhältnissen ausgeführt werden. Ueber diese Frage konnte ich in der Literatur nur wenig Angaben finden. Kolle und Hetsch (44) auch Asakawa (45) schreiben in ihrem Lehrbuch der Bakteriologie, daß Rotlaufbazillen unter anaeroben Verhältnissen ebenso gut wie unter aeroben Verhältnissen gedeihen. Hugo Preisz (46) sagt, die Gegenwart oder das Fehlen des Luftsauerstoffes scheint das Wachstum der Rotlaufbazillen nicht zu beeinflussen. Schmidt und Weis (47) weisen besonders darauf hin, daß der Rotlaufbazillus ein fakultativer Anaerobiant sei, der sogar besser ohne als bei dem Zutritt der Luft gedeiht.

Ich habe mit drei Stämmen der Rotlaufbazillen (für jeden Stamm zweimal) Versuche über das Wachstum bei aeroben und anaeroben Bedingungen gemacht. Dabei habe ich die Seite 18 beschriebene Methode angewandt.

Man sät eine bestimmte Zahl von Rotlaufbazillen in Bouillon ein und vergleicht dann nach beliebiger Zeit die Bakterienzahl unter beiden Verhältnissen.

Versuch I.

Zeit nach der Aussaat		Zahl der Bakterien in 1 ccm
sofort	anaerob	844 200
	aerob	1 013 000
nach 21 Stdn.	anaerob	1 688 400 000
	aerob	699 128 000

Bemerk.: Der Sauerstoffabschluß war vollständig gelungen.

Versuch II.

Zeit nach der Aussaat		Zahl der Bakterien in 1 ccm
sofort	anaerob	315 000
	aerob	326 000
nach 24 Stdn.	anaerob	292 320 000
	aerob	181 440 000

Bemerkung: Der Sauerstoffabschluß war vollständig.

Versuch III.

Zeit nach der Aussaat		Zahl der Bakterien in 1 ccm
sofort	anaerob	317 400
	aerob	305 000
nach 24 Stdn.	anarob	352 800 000
	aerob	171 360 000

Bemerkung: Der Sauerstoffabschluß war komplett.

Versuch: IV.

Zeit nach der Aussaat		Zahl der Bakterien in 1 ccm
sofort	anaerob	378 000
	aerob	394 000
nach 24 Stdn.	anaerob	221 760 000
	aerob	166 320 000

Bemerkung: Unter Zutritt von etwas Sauerstoff.

Versuch V.

Zeit nach der Aussaat		Zahl der Bakterien in 1 ccm
sofort	anaerob	446 800
	aerob	448 400
nach 22 Stdn.	anaerob	174 749 400
	aerob	79 435 200

Bemerkung: Der Sauerstoffabschluß war tadellos gelungen.

Versuch VI.

Zeit nach der Aussaat		Zahl der Bakterien in 1 ccm
sofort	anaerob	482 000
	aerob	473 000
nach 21 Stdn.	anaerob	91 731 400
	aerob	68 415 300

Bemerkung: Unter Zutritt von etwas Sauerstoff.

Auf Grund meiner Versuche glaube ich mit Sicherheit behaupten zu dürfen, daß Rotlaufbazillen unter anaeroben Verhältnissen besser gedeihen als unter aeroben Verhältnissen und sich nach 24 Stunden in Bouillon unter anaeroben Verhältnissen ca 2 mal so gut vermehren als unter aeroben Verhältnissen. Besonders interessant ist es, die Versuche IV und VI, bei denen etwas Sauerstoff hinzugetreten war, mit den übrigen Versuchen bei denen der Sauerstoffabschluß vollständig gelungen war, zu vergleichen. Man sieht daraus deutlich, daß bei den Versuchen IV und VI mit unvollkommenem Sauerstoffabschluß die Vermehrung der Bazillen in den anaeroben Proben nur ca. 1,3 mal so stark war, wie in den aeroben, während in den Versuchen mit tadellosem Sauerstoffabschluß die Vermehrung der Bazillen in den anaeroben Kulturen diejenige der aeroben meistens um mehr als das 2 fache übertroffen hat.

---

2. Die baktericiden Versuche des Rotlaufimmunserums in Vitro unter anaeroben und aeroben Verhältnissen.

Bei folgenden Versuchen war immer 1 ccm Immunserum zur Untersuchung genommen worden.

Versuch I.

Zeit nach der Aussaat		Zahl der Bacterien in 1 ccm
sofort	anaerob	263 700
	aerob	247 800
nach 6 Stdn.	anaerob	28 100
	aerob	201 800

Bemerkung: I. Der Sauerstoffabschluß war vollständig.
II. Das Immunserum war 1 Tag vor dem Versuch von dem Kaninchen genommen worden.

Versuch II.

Zeit nach der Aussaat		Zahl der Bazillen in 1 ccm
sofort	anaerob	301 500
	aerob	274 700
nach 6 Stdn.	anaerob	132 600
	aerob	223 700
nach 24 Stdn.	anaerob	205 000
	aerob	1 037 600

Bemerkung: I. Der Sauerstoffabschluß war nicht vollständig, besonders bei dem zweiten Sauerstoffabschlußverfahren war ein wenig Sauerstoff hinzugetreten.
II. Das Immunserum war 1 Tag vor dem Versuch von dem Kaninchen genommen worden.

Versuch III.

Zeit nach der Aussaat		Zahl der Bazillen in 1 ccm
sofort	anaerob	359 800
	aerob	384 200
nach 6 Stdn.	anaerob	42 200
	aerob	284 600
nach 24 Stdn.	anaerob	0
	aerob	1 387 700

Bemerkung: I. Das Immunserum war 1 Tag vor dem Versuch von dem Kaninchen genommen worden.
II. Der Sauerstoffabschluß war vollständig.

Versuch IV. mit normalem Kaninchenserum.

Zeit nach der Aussaat		Zahl der Bazillen in 1 ccm
sofort	anaerob	391 900
	aerob	603 300

nach 6 Stdn.	anaerob	4 356 000
	aerob	5 973 800
nach 22 Stdn.	anaerob	9 476 200
	aerob	12 064 000

Bemerkung: I. Der Sauerstoffabschluß war vollständig.
II. Das Serum war nach der Entnahme centrifugiert und dann direkt zum Versuch benutzt worden.

Versuch V.

(Gleicher Versuch wie Versuch IV.).

Zeit nach der Aussaat		Zahl der Bazillen in 1 ccm
sofort	anaerob	82 500
	aerob	78 400
nach 6 Stdn.	anaerob	891 500
	aerob	703 100
nach 22 Stdn.	anaerob	2 446 200
	aerob	1 967 800

Bemerkung: I. Der Sauerstoffabschluß war vollständig.
II. Das Serum war nach der Entnahme centrifugiert und dann direkt zum Versuch benutzt worden.

Versuch VI.

Versuch mit dem inaktivierten Rotlaufimmunserum.

Bei diesem Versuch war das Serum durch Hitze 57° C 30 Min.) inaktiviert worden.

Zeit nach der Aussaat		Zahl der Bazillen in 1 ccm
sofort	anaerob	337 500
	aerob	380 400
nach 6 Stdn.	anaerob	2 883 900
	aerob	2 196 200
nach 24 Stdn.	anaerob	7 924 000
	aerob	6 097 000

Bememerkung: I. Der Sauerstoffabschluß war vollständig.
II. Das Serum war 7 Tage vor dem Versuch genommen worden.

Versuch VII.

(Gleicher Versuch wie Versuch VI.).

Zeit nach der Aussaat		Zahl der Bazillen in 1 ccm
sofort	anaerob	412 200
	aerob	431 500

nach 6 Stdn.	anaerob	3892100
	aerob	3071200
nach 24 Stdn.	anaerob	9712000
	aerob	8173000

Bemerkung: I. Der Sauerstoffabschluß war vollständig.
II. Das Serum war 10 Tage vor dem Versuch genommen worden.

Versuch VIII.

Versuch mit dem reaktivierten Immunserum.

Bei diesem Versuch war das Rotlaufimmunserum durch Hitze (57° C 30 Min.) inaktiviert worden, bei Versuch VIII mit normalem Kaninchenserum und bei Versuch IX mit normalem Ziegenserum reaktiviert worden. (Zu 0,5 Immunserum war 0,5 frisches Serum versetzt worden).

Zeit nach der Aussat		Zahl der Bazillen in 1 ccm
sofort	anaerob	281400
	aerob	312600
nach 6 Stdn.	anaerob	167200
	aerob	275900
nach 24 Stdn.	anaerob	42300
	aerob	1827100

Bemerkung: I. Das Serum war 11 Tage vor dem Versuch genommen worden.
II. Der Sauerstoffabschluß war vollständig.

Versuch IX.

Gleicher Versuch wie Versuch VIII.

Zeit nach der Aussaat		Zahl der Bazillen in 1 ccm
sofort	anaerob	241600
	aerob	229700
nach 6 Stdn.	anaerob	131400
	aerob	202500
nach 24 Stdn.	anaerob	67600
	aerob	1584600

Bemerkung: I. Das Serum war 14 Tage vor dem Versuch genommen worden.
II. Der Sauerstoffabschluß war vollständig.

Versuch X.

Versuch mit verdünntem Serum. Bei diesem Versuch wurde das Serum mit Bouillon 10fach verdünnt.

Zeit nach der Aussaat		Zahl der Bazillen in 1 ccm
sofort	anaerob	143 500
	aerob	161 600
nach 6 Stdn.	anaerob	267 100
	aerob	406 500
nach 24 Stdn.	anaerob	54 300
	aerob	226 600

Bemerkung: I. Das Serum war 8 Tage vor dem Versuche genommen worden.

II. Der Sauerstoffabschluß war vollständig.

Versuch XI.

Gleicher Versuch wie Versuch X.

Zeit nach der Aussaat		Zahl der Bazillen in 1 cmm
sofort	anaerob	123 600
	aerob	117 200
nach 6 Stdn.	anaerob	236 200
	aerob	301 400
nach 24 Stdn.	anaerob	55 200
	aerob	121 300

Bemerkung: I. Das Serum war 5 Tage vor dem Versuch genommen worden.

II. Der Sauerstoffabschluß war vollständig.

3. Der bakterizide Versuch mit Rotlaufimmunserum in der Bauchhöhle der getöteten Maus.

Ich habe mich überzeugt, daß, wie die vorstehenden Versuche zeigen, das Vorhandensein des Sauerstoffes die baktericide Wirkung des Rotlaufserum stark abschwächt. Weil in der Bauchhöhle keine freie Luft ist, war ich auf den Gedanken gekommen, dieselben Versuche in der Bauchhöhle der getöteten Maus auszuführen. Der Versuch war in der Weise gemacht worden, daß die Mäuse durch Abschnürung des Halses getötet worden waren und dann sofort das Gemisch von Serum und Bakterien — 1 ccm — in die Bauchhöhle injiziert wurde. Die Mäuse wurden in den Brutofen (37 Grad C) gelegt und nach verschiedenen Zeiträumen von dem Bauchhöhlensaft und auch gleichzeitig von dem Gemisch von Bakterien und Serum, welches in Vitro unter aerobem Zustand sich befand, Plattenkulturen gemacht. Hierauf wurde die Zahl der Kolonien von beiden Platten verglichen.

Versuch I.

Zeit nach der Injektion	Zahl der Bakterien in 1 ccm	
	in der Bauchhöhle	aerob
sofort	156700	156700
nach 2 Stdn.	72300	140600

Bemerkung: Das Serum war 1 Tag vor dem Versuch genommen worden.

Versuch II.

Zeit nach der Injektion	Zahl der Bakterien in 1 ccm	
	in der Bauchhöhle	aerob
sofort	361800	361800
nach 4 Stdn.	114500	335200

Bemerkung: Das Serum war einen Tag vor dem Versuch von dem Kaninchen genommen worden.

Ich habe von dem Saft in der Bauchhöhle mikroskopische Präparate gemacht, bei deren Untersuchung wohl eine bakterienlösende, aber nie phagocytöse Erscheinung d. h. nur einige Leucocyten ohne Bazillen beobachtet.

Versuch III.

Versuch mit reaktiviertem Serum.

Bei diesem Versuch war das Immunserum durch Hitze inaktiviert und mit gleicher Menge von normalem Kaninchenserum reaktiviert worden.

Zeit nach der Injektion	Zahl der Bazillen in 1 ccm	
	in der Bauchhöhle	22300
sofort	aerob	22300
nach 3 Stdn.	in der Bauchhöhle	9200
	aerob	19100

Bemerkung: Das Serum war 15 Tage vor dem Versuche genommen worden.

Versuch IV.

Versuch mit durch Hitze inaktiviertem Serum.

Zeit nach der Injektion	Zahl der Bazillen in 1 ccm	
	in der Bauchhöhle	12600
sofort	aerob	12600
nach 4 Stdn.	in der Bauchhöhle	31600
	aerob	43400

Bemerkung: Das Serum war 14 Tage vor dem Versuche genommen worden.

4. Besprechung der Resultate.

Aus vorstehend angeführten Versuchen sind folgende wichtige Tatsachen ersichtlich:

1. Rotlaufimmunserum zeigt meistens, wie schon viele Forscher konstatiert haben schon unter aeroben Verhältnissen in Vitro eine geringe baktericide Wirkung; unter anaeroben Verhältnissen äußert Rotlaufimmunserum eine ganz starke Baktericidie, was jedoch noch nie bemerkt worden ist, während Rotlaufbazillen unter anaerobenVerhältnissen eine größere Vermehrungskraft als unter aeroben Verhältnissen besitzen.

   Um den Betrag der Baktericidie richtig zu bewerten, muß man diese Zahlen mit jenen vergleichen, welche unter gleichen Versuchsbedingungen mit inaktiviertem Serum erhalten wurden.

   Während sich beim inaktivierten Serum (Versuch VI) die Rotlaufbazillen in 6 Stunden von 380 400 auf 2 196 200, also um 1 815 800 pro 1 ccm anaerob vermehrten, wurden im Versuch I im Immunserum von 263 700 Rotlaufbazillen in 6 Stunden 235 600 vernichtet und im Immunserum-Versuch III wurden die pro 1 ccm eingesäten 359 800 Rotlaufbazillen in 24 Stunden anaerob völlig vernichtet.

   Die bisherigen Autoren haben diese wichtigen baktericiden Versuche unter anaeroben Verhältnissen außer Acht gelassen und konnten dadurch diese deutliche baktericide Wirkung nicht finden.
2. Das Rotlaufimmunserum äußert, wie Versuch VIII und IX zeigen, bei Reaktivierung und auch bei Verdünnung (Versuch X und XI) eine ziemlich starke Baktericidie.
3. Normales Kaninchenserum bewirkt keine Baktericidie auf Rotlaufbazillen weder unter anaeroben noch unter aeroben Verhältnissen, d. h. dieselben gedeihen in normalem Kaninchenserum ziemlich gut, wenn auch nicht so gut wie im Buillon.
4. Das Resultat des Versuches mit inaktiviertem Immunserum zeigt, daß Rotlaufbazillen im inaktivierten Immunserum ähnlich wie im normalen Kaninchenserum gedeihen; daher ist leicht zu erkennen, daß Rotlaufimmunserum durch Erhitzen (57° C 30 Min.) seine baktericide Wirkung verliert.

Die Resultate der in der Bauchhöhle von getöteten Mäusen ausgeführten Versuche sind mit denen in Vitro gleichbedeutend.

Diese Ergebnisse finden ihre Erklärung durch die Theorie von Emmerich und Löw, daß die pathogenen Bakterien bei Sauer-

stoffanwesenheit gewisse Mengen Immunsubstanz (= Eiweißverbindung von bakteriolytischem Enzym oder Immunproteidin) durch oxydative Tätigkeit unwirksam machen und sich so dagegen wehren bezw. schützen können, während bei Sauerstoffabschluß die pathogenen Bakterien der Möglichkeit beraubt sind, den in sie eindringenden bakteriolytischen Immunkörper durch Oxydation zu zerstören, sodaß sie dessen Wirkungen wehrlos ausgesetzt sind. Daher entfalten baktericide Immunsera unter anaeroben Verhältnissen in Vitro eine immerhin sehr starke, wenn auch nicht ganz so kräftige Wirkung wie im Tierkörper, da, wie schon in der Literaturübersicht erwähnt, hier noch einige weitere günstige Faktoren mitwirken.

Diese unter anaeroben Verhältnissen in Vitro ausgeführten baktericiden Versuche waren von anderen Bakteriologen schon mit Typhus-, Cholera- und Phyocyanaseimmunsera gemacht worden und die Resultate waren übereinstimmend mit meinen Versuchsergebnissen.

Sehr bemerkenswert ist folgende Tatsache. Zwei hochimmunsierte Kaninchen, welche schon einmal subcutane Injektionen von 20 ccm vollvirulenter Rotlaufkultur erhalten und gut ertragen hatten, bekamen 14 Tage nach der letztgenannten Injektion nochmals 15 ccm ganz frisch aus Schweinemilz gezüchteter Bouillonkultur von Rotlaufbazillen subcutan. Das eine der Kaninchen starb nach 12, das andere nach 16 Stunden, was sehr merkwürdig war, da beide Tiere vorher schon die höhere Kulturmenge von 20 ccm ohne Schaden ertragen hatten. Die beiden Tiere sind wohl wahrscheinlich durch Anaphylaxie zu Grunde gegangen; um aber nichts unversucht zu lassen, was zur sicheren Aufklärung der Todesursache dienen konnte, habe ich Herzblut, Milz und Leber beider Kaninchen sehr genau mikroskopiert und bakteriologisch durch Gelatineplatten und Bouillonkulturen untersucht, ohne Rotlaufbazillen nachweisen zu können. Dies bestätigt den zuerst von Emmerich erhobenen und später auch von Ganslmayer bestätigten Befund, daß im gegen Rotlauf hochimmunisierten Tierkörper auch enorme Mengen von Rotlaufbazillen, welche in denselben subcutan injiciert werden, binnen 12—16 Stunden völlig vernichtet und aufgelöst sind.

Auf Grund meiner Untersuchungen bin ich zu der Ueberzeugung gekommen, daß die Wirkung des Rotlaufimmunserums hauptsächlich eine baktericide ist.

IV. Zusammenfassung.

I. Die Wirkungsweise des Schweinerotlaufimmunserums ist hauptsächlich eine baktericide.

II. Das Schweinerotlaufimmunserum entfaltet unter anaeroben Verhältnissen eine starke baktericide Wirkung, während es unter aeroben Verhältnissen nur eine geringe baktericide Wirkung besitzt.

III. Normales Kaninchenserum hat keine baktericiede Wirkung auf Rotlaufbazillen, weder unter anaeroben noch unter aeroben Verhältnissen.

IV. Rotlaufbazillen gedeihen unter anaeroben Verhältnissen besser als unter aeroben Verhältnissen, und vermehren sich nach 24 Stunden im Bouillon unter anaeroben Verhältnissen ca. zweimal so gut als unter aeroben Verhältnissen.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht Herrn Prof. Dr. Emmerich für die Überweisung des Themas sowie für seine freundliche Anleitung und Herrn Prof. Dr. Geheimrat Gruber für die liebenswürdige Übernahme des Referates meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

V. Literaturverzeichnis.

1. Emmerich und di Mattei: Fortschritte der Medizin 1888.
2. Emmerich und Mastbaum: Archiv für Hygiene Bd. 12, 1890.
3. Metschnikoff: Ann. du l'Inst. Pasteur Tom. 3, 1889.
4. Friedberger: Centralbl. f. Bacteriologie, Orig. B. 44. 1907
5. Ganslmayer: Zeitschrift f. Immunitätsforschg. Orig. B. 18, 1913.
6. Prettner: Centralbl. f. Bact. Orig. Bd. 43, 1907.
7. Voges: Zeitschr. f. Hygiene Bd. 22, 1896.
8. Voges und Schutz: Deutsche med. Wochenschrift 1896.
9. Mesnil: Ann. du l'Inst. Pasteur Tom. 12, 1898.
10. Jarotzky: Centralbl. f. Bac. Orig. Bd. 44, 1907.
11. Marx: Berliner Tierärztl. Wochenschrift 1901.
12. Deutsch: Centralbl. f. Bac. Orig. Bd. 33, 1903.
13. Cantacuzene: Recherches sur le mede de destruction du vibrion chol. dans l'organisme Paris 1894.
14. Nidrigailoff: Centralbl. f. Bact. Orig. Bd. 41, 1906.
15. Neufeld und Rimpau: Zeitschr. f. Hygiene Bd. 51, 1905.
16. Staal: Centralbl. f. Bact. Orig. Bd. 49, 1909.
17. Rickmann: Berliner tierärztl. Wochenschrift, 1909.
18. Holth: Haanedskrift for Dyrlaeger Bd. 24, 1912.
19. Bail: Handbuch der Serumtherapie von Klimmera Wollfeisner 1911.
20. Klimmer: ebenda.
21. Weil und Braun: Fol. serol. Band 3, 1909.
22. Schnürer: Handbuch der Immunitätsforschung von Kraus-Levaditi. Ergänzgs.-Bch. I, 1911.
23. Spät: Zeitschrift f. Hygiene Bd. 69, 1911 und Bd. 72, 1912.
24. Neufeld und Kandiba: Arbeit a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. 40, 1912.
25. Graef: Zeitschrift f. Hygiene Bd. 75, 1913.
26. Behring und Nissen: Zeitschrift f. Hygiene Bd. 8, 1890.
27. Sobernheim: Zeitschrift f. Hygiene Bd. 14, 1893.
28. Isaeff und Ivanoff: Zeitschrift f. Hygiene Bd. 17, 1894.
29. Pfeiffer und Wassermann: Zeitschrift f. Hygiene Bd. 14, 1893.
30. Pfeiffer: Zeitschrift f. Hygiene Bd. 18, 1894.
31. Pfeiffer und Kolle: Zeitschrift f. Hygiene Bd. 21. 1896.
32. Wassermann: Zeitschrift f. Hygiene Bd. 22, 1896.
33. Pfeifer: Zeitschrift f. Hygiene Bd. 21, 1896.
34. Bordet: Ann. de l'Institut Pasteur Tom. 9, 1895.
35. Metschnikoff: Ann. de l'Institut Pasteur Tom. 9, 1895.
36. Bordet: Ann. de l'Institut Pasteur Tom. 9, 1895.
37. Gruber und Durham: Wiener med. Wochenschr. 1896.
38. Sivori und Constantini: Centralbl. f. Bacteriologie Orig. Bd. 66, 1912.
39. Emmerich und Löw: Zeitschr. f. Hygiene Bd. 31, 1899.
40. Müller: Centralbl. f. Bacteriologie Orig. Bd. 28, 1900.
41. Walker: Centralbl. f. Bacteriologie Orig. Bd. 29. 1901.
42. Wright: Proceeding of the Royal Society Vol. 71, 1902.
43. Kabrehl Gustav: Centralbl. f. Bacteriologie Orig. Bd. 25 1899.
44. Koll und Hetsch: Die experimentelle Bacteriologie etc. von Koll und Hetsch 1911.
45. Asakawa: Lehrbuch der Bacteriologie 1900.
46. Hugo Preisz: Handbuch von Kraus Levaditi 1913.
47. Schmidt und Weiß: Die Bacterien 1902.

Lebenslauf.

Ich Schohei Fukui, geboren am 20. Oktober 1888 in Osaka besuchte die Mittelschule in Tokio, welche ich im März 1905 absolvierte.

Im April des gleichen Jahres immatriculierte ich mich in Kioto in der medizinischen Akademie und bestand im Juli 1909 nach 9 Semestern die Reifeprüfung.

Hierauf ging ich direkt zum Militär und wurde dort im Februar 1910 Assistenzarzt. Mein Approbationszeugnis als Arzt habe ich im Januar 1910 erhalten.

Im Juni 1913 kam ich nach Deutschland um weiter zu studieren und bin nun seit Oktober 1913 an der K. Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität München inscribiert.